

Title	Fzo1, a Protein Involved in Mitochondrial Fusion, Inhibits Apoptosis
Author(s)	杉山, 梨恵
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45419
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	すぎやま ^{すぎおか} ^り ^え 杉山 (杉岡) 梨 恵
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 19343 号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科未来医療開発専攻
学位論文名	Fzo1, a Protein Involved in Mitochondrial Fusion, Inhibits Apoptosis (ミトコンドリア融合に関与する因子 Fzo1 によるアポトーシス抑制)
論文審査委員	(主査) 教授 辻本 賀英 (副査) 教授 長田 重一 教授 米田 悦啓

論文内容の要旨

[目的]

ミトコンドリアは、アポトーシスシグナル伝達において極めて重要な役割を果たしている。生細胞内では、ミトコンドリアは、分裂と融合を繰り返すことにより活発に形態を変化させ、その恒常性を維持している。近年、アポトーシス誘導に伴い、ミトコンドリアが断片化 (過剰分裂) することや、ミトコンドリアの融合/分裂とアポトーシスとの関連が示唆されてきた。しかしながら、ミトコンドリア融合/分裂に関わる因子によるアポトーシス制御機構については不明な点が多い。そこで我々は、まずミトコンドリア融合に関与する因子の 1 つである Fzo1 に着目し、Fzo1 によるアポトーシス抑制効果およびアポトーシス時のミトコンドリア変化に対する抑制効果を検討した。さらに、他のミトコンドリア融合/分裂に関与する因子の解析も加え、ミトコンドリア融合/分裂のバランスがアポトーシスにどの程度、またどのような機構で寄与しているかを検討した。

[方法ならびに成績]

ミトコンドリア融合に関与する因子 Fzo1 (ラット) を複数の培養細胞株に過剰発現したところ、きわめて発達したネット状ミトコンドリアが形成され、アポトーシス時のミトコンドリア断片化やアポトーシスが抑制されることを見出した。逆に、RNA 干渉法を用いて Fzo1 または Mfn (Fzo1 ヒトホモログ) の発現を抑制したところ、無刺激下でミトコンドリアの断片化が見られ、対照細胞に比べ、エトポシド誘導性アポトーシスにより高い感受性を示した。一方、ミトコンドリア分裂に関与する因子 Dnm1 (ラット) または Drp1 (Dnm1 ヒトホモログ) の発現を抑制すると、極めて発達したネット状ミトコンドリアを形成し、エトポシド誘導性アポトーシスに耐性を示した。また、Fzo1 を過剰発現することにより、エトポシド誘導性シトクロム *c* 漏出や Bax/Bak 活性化の遅延が見られた。さらに、ミトコンドリア融合/分裂因子がアポトーシス制御に関わるメカニズムをより詳細に解析するために permeabilized cell 系を導入した。この系は、培養細胞を界面活性剤であるジギトニンで処理することにより、核膜や細胞小器官に損傷を与えずに細胞膜の透過性を高めたもの (permeabilized cells) で、任意の物質を細胞内に簡便に導入することが出来る。我々はこの系を用いて、RNA 干渉法により Mfn または Drp1 の発現を抑制した HeLa 細胞において、シトクロム *c* 漏出を誘導する Bid リコンビナント蛋白質 (rBid) に対するミトコンドリアの感受性を検討した。その結果、Mfn の

発現を抑制した細胞は、対照細胞に比べ、rBid 誘導性 Bak 活性化およびシトクロム *c* 漏出により高い感受性を示した。一方、Drp1 の発現を抑制した細胞は、rBid 誘導性 Bak 活性化およびシトクロム *c* 漏出により強い耐性を示した。

[総括]

本研究で、我々は、複数の培養細胞株において、アポトーシス時にミトコンドリア断片化が起こることを確認した。また、ミトコンドリア融合/分裂に関与する因子の発現レベルのバランスの変化は、細胞およびミトコンドリアのアポトーシス刺激に対する感受性に影響を及ぼすことを見出した。また、この効果は、ミトコンドリア融合/分裂に関与する因子が、アポトーシス時のミトコンドリア変化（シトクロム *c* 漏出および Bax/Bak 活性化）を調節していることによるものであることを示唆した。以上より、ミトコンドリアの融合/分裂に関与する因子がミトコンドリアレベルでアポトーシスシグナル伝達を制御していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

ミトコンドリアは、分裂と融合を繰り返すことにより活発に形態を変化させ、その恒常性を維持していると同時に、アポトーシスシグナル伝達において極めて重要な役割を果たしている。近年、アポトーシス誘導に伴い、ミトコンドリアが断片化（過剰分裂）することや、ミトコンドリアの分裂/融合とアポトーシスとの関連が示唆されてきたが、詳細な制御機構については不明な点が多い。本研究は、ミトコンドリア分裂/融合に関わる因子によるアポトーシス制御機構の解明を目的とした研究である。

本研究において、ミトコンドリア融合/分裂に関与する因子の発現レベルバランスを変化させると、アポトーシス刺激に対する、細胞およびミトコンドリアの感受性に影響を及ぼすことを見出した。また、この効果は、ミトコンドリア融合/分裂に関与する因子が、アポトーシス時のミトコンドリア変化を調節していることによるものであることを示唆した。

以上の結果は、ミトコンドリアの融合/分裂に関与する因子がミトコンドリアレベルでアポトーシスシグナル伝達制御に寄与していることを示唆したものであり、アポトーシス制御機構の解明に貢献したものである。よって、学位の授与に値すると考えられる。